Aus der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Freien Universität Berlin
im Städtischen Krankenhaus Westend
ehem. Direktor: Professor Dr med. Gotthard Schettler

BEITRAG ZUR BILIÄREN AUSSCHEIDUNG VON GALLENSÄUREN BEI ERKRANKUNGEN DER LEBER UND DER GALLENWEGE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Alexandra Schmidt, geb. Schackwitz
aus Berlin

1966

Aus der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Freien
Universität Berlin im Städtischen Krankenhaus Westend
ehem. Direktor: Professor Dr. med. Gotthard S c h e t t l e r

Beitrag zur biliären Ausscheidung von Gallensäuren bei Erkrankungen der Leber und der Gallenwege

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Alexandra Schmidt, geb. Schackwitz
aus Berlin

Dekan: Prof. Dr. med. Alfred N. W i t t

Referent: Prof. Dr. med. Gotthard S c h e tt l e r

Korreferent: Prof. Dr.med., Dr.sc.h.c., Dr.med.vet.h.c.,
Dr.med.h.c. Hans Freiherr v. K r e s s

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 9. Dezember 1966

Meinem Vater

gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535704_0087

Inhaltsangabe

Seite

Einleitung 1

Experimenteller Teil 4

I. Methodik 4
1) Reagentien und Geräte 4
2) Untersuchungsmaterial 4

A. Gewinnung des Untersuchungsmaterials 5
1) B-Galle 5
2) Blasengalle 5

B. Bearbeitung des Untersuchungsmaterials 5
1) Äthanolfällung 5
2) Butanolextraktion 5

C. Bereitung der Platten 5

D. Das Auftragen des zu chromatographierenden Materials 6

E. Bereiten der Fließmittelsysteme 6

F. Arbeitsgang 6

II. Versuche 9

1) Vergleich der Dünnschichtchromatogramme von äthanol - und butanolextrahierten Gallen ... 9

2) Vergleich der Chromatogramme frisch nach Gewinnung mit Äthanol extrahierter Galle mit Chromatogrammen derselben Gallen, die nach 30 Minuten, nach 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12 Stunden und nach 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 Tagen gefällt wurden 9

3) Untersuchung des äthanolgefällten Gallenmaterials bei gegebenen Zeit- und Temperaturbedingungen 10

Schlußfolgerungen 11

4) Identifizierung und semiquantitative Bestimmung der Gallensäuren 11

Schlußfolgerungen 12

Hauptversuche 13

Ergebnisse 17

Diskussion der Ergebnisse..... 20

Zusammenfassung 24

Literaturverzeichnis 25

Einleitung

Die Galle enthält neben Gallenfarbstoffen unter anderem Lipoide, Fettsäuren und Gallensäuren, dazu eine Anzahl von Stoffen, die als Endprodukte verschiedener Stoffwechsel- und Entgiftungsvorgänge den Organismus verlassen.
Ein Teil der mit der Galle in das Duodenum entleerten Gallensäuren wird durch die Duodenalschleimhaut wieder in das Pfortadersystem resorbiert und durch die Galle erneut ausgeschieden.
Bisher konnten 28 verschiedene, tierische Gallensäuren identifiziert werden[1]; davon wurden 5 Gallensäuren bzw. deren Taurin- oder Glycinkonjugate in der menschlichen Galle bzw. im Duodenalsaft nachgewiesen (siehe Tab. 1).

Tab. 1: Im menschlichen Duodenalsekret nachgewiesene Gallensäuren.

Cholsäure	3a,	7a, 12a-	Trioxy-	cholansäure
Chenodesoxycholsäure	3a,	7a-	Dioxy-	"
Desoxycholsäure	3a,	12a-	Dioxy-	"
Ursodesoxycholsäure	3a,	7 -	Dioxy-	"
Lithocholsäure	3a-		Monooxy-	"

Ob alle Gallensäuren in den Leberzellen synthetisiert werden oder einige eventuell im enterohepatischen Kreislauf entstehen, ist noch nicht geklärt. Die bisherigen Untersuchungen lassen annehmen, daß ein Teil der Cholsäure im enterohepatischen Kreislauf durch bakterielle Tätigkeit zu Desoxycholsäure reduziert wird (E n c r a n t z und S j ö v a l l[2], L i n d s t e d t[3], F a i l e y, B r o w n und H o d e s[4]. Daß gewisse Mikrobakterien dazu im Stande sind, zeigten H a y a k a w a und K u r o k a w a. Weiterhin ist nicht bekannt, ob die Gallensäuren in der menschlichen Galle physiologischerweise in freier und konjugierter Form vorliegen.

Auch die Mengenverhältnisse der einzelnen Gallensäuren sind nicht mit Sicherheit bekannt. Die Angaben der einzelnen Forschergruppen differieren (S j ö v a l l[6], W i g g i n s u. W o o t t o n[7], G i o v a n n e t t i, M a g g i o r e, V i v a l d i[8], I s a k s s o n[9]). Grund der widersprüchlichen und ungenauen Angaben über das quantitative Vorkommen der individuellen Gallensäuren sind Schwierigkeiten, die ihrer Isolierung und quantitativen Bestimmung entgegenstehen. Ursache hierfür sind die ähnlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften der Gallensäuren. Gelang es bisher, einzelne oder mehrere Gallensäuren zu extrahieren und rein zu gewinnen, so konnten doch niemals alle Gallensäuren gleichzeitig unter denselben Versuchsbedingungen und mit den gleichen Lösungsmitteln aufgetrennt und dargestellt werden. Eine große Zahl von Untersuchern hat sich mit dem Problem der Auftrennung der Gallensäuren beschäftigt und säulen- , papier-, dünnschicht- und gaschromatographische Methoden eingesetzt. Säulenchromatographische Verfahren, wie sie zuerst von A h r e n s und C r a i g[10], später von H o w a r d und M a r t i n als Umkehrphasenchromatographie angegeben[11] und auf silanisierten Säulen von N o r m a n[12] u. S j ö v a l l[13] versucht wurden, ermöglichten eine teilweise Auftrennung konjugierter Gallensäuren. Weitere Vorschriften zur säulenchromatographischen Trennung der Gallensäuren gaben M o s b a c h und Mitarb.[14], H a u t o n [15] sowie G r i e s m a n n und F a l c k[16].

Papierchromatographische Verfahren wurden von K r i t c h e v s k y und K i r k[17], B e y r e d e r und R e t t e n b a c h e r - D ä u b n e r[18] und S j ö v a l l[19] beschrieben.

Ein Verfahren auf kieselgelpräpariertem Papier gaben H a m i l t o n und D i e c k e r t[20] an.

Gänshirt, Koss und Moriantz[21] wandten die Dünnschichtchromatographie nach Stahl[22] zur Trennung von Gallensäuren an. Freie und konjugierte Gallensäuren mußten jeweils getrennt auf 2 Patten analysiert werden. Wagener und Frosch gelang es, auf einer Kieselgelplatte zweidimensional außer den konjugierten Dioxycholansäuren alle beim Menschen bedeutsamen konjugierten und freien Gallensäuren zu trennen[23]. Gaschromatographisch ließ sich bisher nur die Trennung freier Gallensäuren durchführen (van den Heuvel, Sweeley und Horning[24], Blomstrand[25], Sjövall, Meloni und Turner[26].

In der vorliegenden Arbeit wird die oben angeführte Methode nach Wagener und Frosch angewandt, um folgende Fragen zu klären:

I. Enthält die Galle gesunder Menschen freie Gallensäuren?
Wenn ja, welche und in welchen Mengen?

II. Unterscheidet sich das Gallensäuremuster bei Leberkrankheiten, bei entzündlichen Veränderungen im Bereich der ableitenden Gallenwege sowie Hyper- oder Subacidität des Magensaftes von dem Gesunder?

III. Zeigen sich Unterschiede im Gallensäuremuster zwischen Blasengalle (Inhalt ektomierter Gallenblasen) und sogenannter B-Galle?

Einleitung

Die Galle enthält neben Gallenfarbstoffen unter anderem Lipoide, Fettsäuren und Gallensäuren, dazu eine Anzahl von Stoffen, die als Endprodukte verschiedener Stoffwechsel- und Entgiftungsvorgänge den Organismus verlassen.
Ein Teil der mit der Galle in das Duodenum entleerten Gallensäuren wird durch die Duodenalschleimhaut wieder in das Pfortadersystem resorbiert und durch die Galle erneut ausgeschieden.
Bisher konnten 28 verschiedene, tierische Gallensäuren identifiziert werden[1]; davon wurden 5 Gallensäuren bzw. deren Taurin- oder Glycinkonjugate in der menschlichen Galle bzw. im Duodenalsaft nachgewiesen (siehe Tab. 1).

Tab. 1: Im menschlichen Duodenalsekret nachgewiesene Gallensäuren.

Cholsäure	3a,	7a,	12a- Trioxy-	cholansäure
Chenodesoxycholsäure	3a,	7a-	Dioxy-	"
Desoxycholsäure	3a,	12a-	Dioxy-	"
Ursodesoxycholsäure	3a,	7 -	Dioxy-	"
Lithocholsäure	3a-		Monooxy-	"

Ob alle Gallensäuren in den Leberzellen synthetisiert werden oder einige eventuell im enterohepatischen Kreislauf entstehen, ist noch nicht geklärt. Die bisherigen Untersuchungen lassen annehmen, daß ein Teil der Cholsäure im enterohepatischen Kreislauf durch bakterielle Tätigkeit zu Desoxycholsäure reduziert wird (E n c r a n t z und S j ö v a l l[2], L i n d s t e d t[3], F a i l e y, B r o w n und H o d e s[4]. Daß gewisse Mikrobakterien dazu im Stande sind, zeigten H a y a k a w a und K u r o k a w a. Weiterhin ist nicht bekannt, ob die Gallensäuren in der menschlichen Galle physiologischerweise in freier und konjugierter Form vorliegen.

Auch die Mengenverhältnisse der einzelnen Gallensäuren sind nicht mit Sicherheit bekannt. Die Angaben der einzelnen Forschergruppen differieren (Sjövall[6], Wiggins u. Wootton[7], Giovannetti, Maggiore, Vivaldi[8], Isaksson[9]). Grund der widersprüchlichen und ungenauen Angaben über das quantitative Vorkommen der individuellen Gallensäuren sind Schwierigkeiten, die ihrer Isolierung und quantitativen Bestimmung entgegenstehen. Ursache hierfür sind die ähnlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften der Gallensäuren. Gelang es bisher, einzelne oder mehrere Gallensäuren zu extrahieren und rein zu gewinnen, so konnten doch niemals alle Gallensäuren gleichzeitig unter denselben Versuchsbedingungen und mit den gleichen Lösungsmitteln aufgetrennt und dargestellt werden. Eine große Zahl von Untersuchern hat sich mit dem Problem der Auftrennung der Gallensäuren beschäftigt und säulen- , papier-, dünnschicht- und gaschromatographische Methoden eingesetzt. Säulenchromatographische Verfahren, wie sie zuerst von Ahrens und Craig[10], später von Howard und Martin als Umkehrphasenchromatographie angegeben[11] und auf silanisierten Säulen von Norman[12] u. Sjövall[13] versucht wurden, ermöglichten eine teilweise Auftrennung konjugierter Gallensäuren. Weitere Vorschriften zur säulenchromatographischen Trennung der Gallensäuren gaben Mosbach und Mitarb.[14], Hauton[15] sowie Griesmann und Falck[16].

Papierchromatographische Verfahren wurden von Kritchevsky und Kirk[17], Beyreder und Rettenbacher-Däubner[18] und Sjövall[19] beschrieben.

Ein Verfahren auf kieselgelpräpariertem Papier gaben Hamilton und Dieckert[20] an.

Gänshirt, Koss und Moriantz[21] wandten die Dünnschichtchromatographie nach Stahl[22] zur Trennung von Gallensäuren an. Freie und konjugierte Gallensäuren mußten jeweils getrennt auf 2 Patten analysiert werden. Wagener und Frosch gelang es, auf einer Kieselgelplatte zweidimensional außer den konjugierten Dioxycholansäuren alle beim Menschen bedeutsamen konjugierten und freien Gallensäuren zu trennen[23]. Gaschromatographisch ließ sich bisher nur die Trennung freier Gallensäuren durchführen (van den Heuvel, Sweeley und Horning[24], Blomstrand[25], Sjövall, Meloni und Turner[26].

In der vorliegenden Arbeit wird die oben angeführte Methode nach Wagener und Frosch angewandt, um folgende Fragen zu klären:

I. Enthält die Galle gesunder Menschen freie Gallensäuren?
Wenn ja, welche und in welchen Mengen?

II. Unterscheidet sich das Gallensäuremuster bei Leberkrankheiten, bei entzündlichen Veränderungen im Bereich der ableitenden Gallenwege sowie Hyper- oder Subacidität des Magensaftes von dem Gesunder?

III. Zeigen sich Unterschiede im Gallensäuremuster zwischen Blasengalle (Inhalt ektomierter Gallenblasen) und sogenannter B-Galle?

Experimenteller Teil.

METHODIK.

1) Reagentien und Geräte:

a) Reagentien:

Kieselgel G nach Stahl	Merck	Nr.	7733
n-Butanol p.a. für Chromatographie	"	"	9628
Essigsäure p.a. 99-100%	"	"	90060
Toluol p.a.	"	"	8325
Äthanol absolut p.a.	"	"	972
Salzsäure min.32% (etwa 1,16) p.a.	"	"	319
Antimontrichlorid	"	"	7838

b) Geräte:

Ausrüstung für Dünnschichtchromatographie nach Stahl der Firma Desaga, Heidelberg.

2) Untersuchungsmaterial:

a) Durch Duodenalsondierung gewonnene menschliche B-Galle.

b) Blasengalle (Inhalt ektomierter Gallenblasen).

A. Gewinnung des Untersuchungsmaterials:

1) B-Galle:
Den Patienten wird eine Duodenalsonde gelegt, Der zunächst ablaufende Duodenalsaft (A-Galle) wird verworfen und 50 ccm einer 20%igen Magnesiumsulfatlösung instilliert. Nach 20 Min. wird das auf diesen Reiz abfließende Sekret (B-Galle) aufgefangen.

2) Blasengalle:
Nach Cholecystektomie wird der Gallensaft mit einer Injektionsspritze der Gallenblase entnommen.

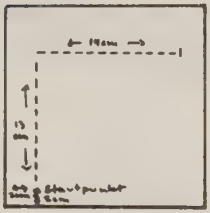
B. Bearbeitung des Untersuchungsmaterials:

1) Äthanolfällung:
2 ml frisch gewonnene Galle werden mit 4 ml Äthanol versetzt und 10 Minuten bei 3000 Umdrehungen/Min. zentrifugiert. Der Überstand wird dekantiert.

2) Butanolextraktion:
Der beim Eindampfen des äthanolischen Überstandes gebildete Rückstand wird in wenig aqua dest. gelöst, mit Salzsäure angesäuert (pH 1) und 3mal mit 10 ml Butanol ausgeschüttelt. Die vereinigten Butanolphasen werden mit dest. Wasser neutral gewaschen und eingedampft. Der trockene Rückstand wird in 2 ml Äthanol gelöst.

C. Bereitung der Platten:
Gut gereinigte Glasplatten (20 x 20 cm) werden nach der von Stahl beschriebenen Methode (30 g Kieselgel, 60 g Wasser) mit Kieselgel bestrichen. Danach werden die Platten eine halbe Stunde an der Luft und anschließend eine Stunde lang bei 100° C im Trockenschrank getrocknet.

D. Das Auftragen des zu chromatographierenden Materials.



Der Startpunkt (2 cm oberhalb des unteren Plattenrandes, 3 cm Abstand vom seitlichen Plattenrand) und die Laufstrecken (1 = 13 cm, 2 = 14 cm) werden markiert. Vom Gallenextrakt werden mit Blutzuckerpipetten 0,02 ml als möglichst kleiner Punkt ohne Beschädigung der Dünnschicht aufgetragen.

E. Bereiten der Fließmittelsysteme:

Fließmittel A: Butanol, Eisessig und aqua dest. werden im Verhältnis 10:1:1 gemischt und davon 180 ml in sauber gespülte Chromatographiekästen, deren Boden mit Filterpapier ausgelegt ist, gegossen. Die Platten werden erst eine halbe Stunde nach Einfüllen des Lösungsmittels eingestellt. Die Kastendeckel werden gut mit Hahnfett abgedichtet.

Fließmittelsystem B: Toluol, Eisessig und aqua dest. werden im Verhältnis 7,5 : 12,5 : 1 gemischt. Vor Einfüllen des Lösungsmittels werden die Kästen am Boden und an 3 Seiten mit Filterpapier ausgeschlagen und das Lösungsmittel auf 0,5 cm Höhe eingefüllt.

F. Arbeitsgang:

Die äthanolischen Extrakte bzw. die Butanolextrakte werden wie beschrieben aufgetragen und im Fließmittelsystem A bei einer konstanten Temperatur von 18° C entwickelt. Je nach Feuchtigkeitsgehalt der eingestellten Platten

erreicht das Lösungsmittel die 13 cm - Markierung in 5 - 7 Stunden. Die Platten werden herausgenommen und aufrecht stehend angetrocknet. Dann werden sie mit dem Föhn kalt getrocknet und anschließend für 6 Stunden in einen Exsikator gestellt. Danach werden die Platten in das Fließmittelsystem B senkrecht zur ersten Laufrichtung eingestellt. In 1 1/2 bis 2 Stunden erreicht die Lösungsmittelfront den 2. Markierungspunkt bei 14 cm. Die Platten werden herausgenommen und im Trockenschrank ca. 5 Minuten bei 85° C getrocknet.

Unter dem Abzug werden die Platten gleichmäßig mit Antimontrichlorid-Reagenz (Antimontrichlorid - Eisessig 1 : 1 w/w.) besprüht und 5 Minuten lang bei 85° C entwickelt. Nach dem Abkühlen werden die Platten im UV-Licht betrachtet. Die Gallensäuren leuchten als blaue, bräunliche, rote, fluoreszierende Punkte in einem etwa unter 45° verlaufenden, nach oben konvexen Bogen, auf (s. Abb. 1). Zur Identifizierung der getrennten Gallensäuren werden Gemische bekannter freier Säuren und nach N o r m a n[27] synthetisierte Konjugate chromatographisch aufgetrennt und die Laufstrecken verglichen.

Abb. 1 : Zweidimensionale dünnschichtchromatographische Trennung eines Gemisches industrieller und nach N o r m a n synthetisierter Gallensäuren.

1 = Taurocholsäure
2 = Taurinkonjugate der Dioxycholansäuren
3 = Taurolithocholsäure
4 = Glycocholsäure
5 = Glycinkonjugate der Dioxycholansäuren
6 = Glycolithocholsäure
7 = Cholsäure
8 = Chenodesoxycholsäure
9 = Desoxycholsäure
10 = Lithocholsäure

Raum zwischen 1-2, Taurocholsäure - Taurodioxycholansäuren = T_1-Bereich

Raum zwischen 2-4, Taurodixycholansäuren - Glycocholsäure = T_2-Bereich

Raum zwischen 4-5, Glycocholsäure - Glycodioxycholansäuren = G_1-Bereich

Raum zwischen 5-7, Glycodioxycholansäuren - Cholsäure = G_2-Bereich

Versuche.

Zur Untersuchung wurden für jeden der folgenden Versuche 4 B-Gallen verwendet.

1) Vergleich der Dünnschichtchromatogramme von äthanol- und butanolextrahierten Gallen.

Frisch gewonnene B-Gallen wurden
a) mit Äthanol extrahiert und b) mit Butanol extrahiert.
Die Extrakte wurden unter gleichen Versuchsbedingungen und zur gleichen Zeit chromatographisch aufgetrennt.

Ergebnis:

Es finden sich keine Unterschiede in den Chromatogrammen der verschieden extrahierten Gallen. Zahl und Größe der getrennten Punkte und Trennschärfe entsprechen sich. Demnach bietet die Butanolextraktion der Galle keine Vorteile gegenüber der Äthanolfällung.

2) Vergleich der Chromatogramme frisch nach Gewinnung mit Äthanol extrahierter Galle mit Chromatogrammen derselben Galle, die nach 30 Minuten, nach 1,2,3,4,5,6,7,8,9, 10,11,12 Stunden und nach 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 Tagen gefällt wurden.

Ergebnis:
Wird Galle sofort nach Gewinnung mit Äthanol extrahiert und chromatographiert, so treten die bekannten Punkte, die der Taurocholsäure, der beiden Taurinkonjugate, der Dioxycholansäuren, der Glycocholsäure sowie den beiden Glycinkonjugaten der Dioxycholansäuren entsprechen, auf.

Wenn die gewonnene Galle nur eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur aufbewahrt wird und erst dann mit Äthanol extrahiert wird, treten 2 weitere Punkte im T_1- und T_2-Bereich hinzu (s. Erklärung Abb. 1).
Wird die Galle erst nach 1 Stunde äthanolextrahiert, zeigt sich ein dritter zusätzlicher Punkt im G_1-Bereich.
Nach 2 - 12 Stunden äthanolextrahierte Galle zeigt keine weiteren Veränderungen.
Wird die Galle 2 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt und erst dann äthanolextrahiert, treten freie Gallensäuren auf.
Es ist zweckmäßig, Galle sofort nach Gewinnung zu extrahieren, da die Chromatogramme von erst nach einer halben Stunde nach der Gewinnung äthanolgefällter Galle zusätzliche Punkte in den genannten Bereichen zeigen.
Die bei längerem Stehenlassen der Galle aufgetretenen freien Gallensäuren sind wahrscheinlich auf bakterielle Hydrolyse zurückzuführen.

3) Untersuchung des äthanolgefällten Gallenmaterials bei gegebenen Zeit- und Temperaturbedingungen.

Frisch gewonnene B-Gallen wurden sofort mit Äthanol gefällt und
a) verschlossen im Eisschrank
b) verschlossen bei Zimmertemperatur aufbewahrt.
Chromatographiert wurde jeweils nach 1,2,3,..... 30 Tagen.

Ergebnis:

Die einen Tag im Eisschrank und bei Zimmertemperatur gelagerten Äthanolextrakte zeigen zusätzliche Punkte im T_1- und T_2-Bereich.
Bis zu einem Monat Lagerzeit treten keine weiteren Veränderungen hinzu. Es bestehen keinerlei Unterschiede in der Haltbarkeit des Gallenmaterials bei Aufbewahrung im Eisschrank oder bei Zimmertemperatur.

Schlußfolgerungen:

Da die Butanolextraktion der Galle für die gestellten Fragen keine Vorteile gegenüber der Äthanolfällung bietet und weitaus zeitraubender ist, wurden die Gallen in den folgenden Untersuchungen mit Äthanol gefällt. Es empfiehlt sich, die frisch gewonnene Galle sofort mit Äthanol zu fällen, um Veränderungen der Gallensäuren durch wahrscheinlich bakterielle Einwirkung zu vermeiden.
Da jedoch bei Lagerung der Extrakte über 24 Stunden zusätzliche, nicht identifizierte Flecken im Bereich der Gallensäurenkonjugate auftreten, ist es zweckmäßig, die äthanolischen Gallenextrakte sofort chromatographisch zu trennen.

4) Identifizierung und semiquantitative Bestimmung der Gallensäuren.

In Anlehnung an die Versuche von C a r e y[28] werden a) freie und konjugierte Testgallensäuren in äthanolischer Lösung in aufsteigenden Konzentrationen 0,1, 0,2, 0,3,.....10,0ng auf Platten nebeneinander aufgetragen, chromatographisch getrennt, mit Antimontrichlorid entwickelt und im UV - Licht betrachtet.

Ergebnis:

1) Eine Konzentration von 0,5ng der jeweiligen Gallensäure ist gerade noch als Fleck sichtbar.
2) Jede Gallensäure leuchtet in der für sie charakteristischen Farbe auf: Cholsäure blau, Chenodesoxycholsäure blassgrau, Desoxycholsäure bräunlich, Lithocholsäure rötlich. Ihre Konjugate zeigen die gleichen Farben.
3) Die Farbintensität der Flecken und die Fleckgröße ist etwa proportional der aufgetragenen Gallensäuremenge,

d.h. kleine Gallensäurenkonzentrationen geben kleine und farbschwache, große Gallensäurenkonzentrationen zeigen große, farbstarke Flecke.

Schlußfolgerung:

Die im Chromatogramm erhaltene Fleckgröße entspricht etwa der vorliegenden Konzentration der jeweiligen Gallensäure. So ist es möglich, Konzentrationsänderungen der einzelnen Gallensäuren zu erkennen und vergleichend auszuwerten.

In den folgenden Chromatographischen Reihenuntersuchungen werden zur semiquantitativen Auswertung der Chromatogramme 5 Konzentrationssymbole: x, xx, xxx, xxxx und xxxxx eingesetzt. Die relativen Mengenverhältnisse der einzelnen Gallensäuren in einem Chromatogramm werden miteinander verglichen. Entsprechend der Größe der einzelnen Gallensäurenflecken wird ein entsprechendes Konzentrationssymbol gewählt.

Hauptversuche.

Inhalt ektomierter Gallenblasen wurden wie beschrieben aufgearbeitet, chromatographiert und die getrennten Gallensäuren semiquantitativ bestimmt.

Die Untersuchten waren:

14 Gesunde

8 Patienten mit pathologich-histologisch und klinisch diagnostizierter Lebercirrhose.

9 Patienten mit klinisch diagnostizierter Hepatitis (acuta, chronica sowie Zustand nach Hepatitis).

7 Patienten mit pathologisch-anatomisch bzw. klinisch diagnostizierter Cholecystitis.

4 Patienten mit Subacidität des Magensaftes.

2 Patienten mit Hyperacidität des Magensaftes.

T A B E L L E

	Lfd. Nr.	Tauro-cholsäure	Tauro-dioxy-cholansäure	Glyco-cholsäure	Glyco dioxy-cholansäure	Cholsäure	Chenodesoxy-cholsäure	Desoxy-cholsäure	Lithocholsäure
Gesunde	1	x	xxx	xx	xxxxx				
	2	x	xxx	xx	xxxxx		■		
	3	x	xxx	xx	xxxx				
	4	x	xxxx	xx	xxx				
	5	x	xxx	xx	xxxx	■			
	6	x	xx	xx	xxxx				
	7	x	xxx	xx	xxxx				
	8	x	xxx	xxx	xxxx		■		
	9	x	xxxx	xxx	xxxxx	■	■		
	10	x	xx	xxxx	xxx				
	11	x	xx	xxx	xxxx	■		■	
	12	x	xxx	xx	xxxx				
	13	x	xxx	xx	xxxx				
	14	x	xxx	xx	xxxx				
Lebercirrhose	15	xx	xxxx	x	xxx				
	16	xx	x	xxx	xxxx	■	■	■	
	17	xx	xx	xxxx	xxx				
	18	x	xxx	xx	xxxx				
	19	xx	x	xxxx	xxx				
	20	xxx	x	xxxx	xxx		■		
	21	xxx	x	xxxx	xx				
	22	xxx	x	xxx	xx				
Hepatitis acuta	23	xxxx	x	xxx	xx				
	24	xxx	x	xxxx	xx	■			
	25	xxx	x	xxxx	xx				
	26	xxx	x	xxxx	xx				
	27	xxx	x	xxxx	xx	■	■	■	
" subacuta	28	x	xx	xxxx	xxx	■			
" chronica	29	xx	x	xxxx	xxx				
Z.n.Hepatitis	30	xx	x	xxxx	xxx				
	31	xx	x	xxxx	xxx	■			
Cholecystitis	32	x	xx	xxx	xxxx	■	■	■	
	33	x	xx	xxx	xxxxx				
bei Cholelithiasis	34	x	xxx	xx	xxxx	■	■	■	
	35	x	xxx	xxx	xxxxx				
	36	x	xxx	xx	xxxx				
	37	x	xxx	xxx	xxxx				
bei Papillenstenose	38	xxxx	xx	xxx	x				
Subacidität des Magensaftes	39	x	xxx	xx	xxxx				
	40	x	xxx	xx	xxxxx	■	■	■	
	41	x	xx	xxx	xxxx				
	42	x	xx	xxx	xxxxx				
Hyperacidität des Magensaftes	43	x	xxx	x	xxx				
	44	x	xxx	x	xxxx				

Histol. Diagnose des Leberpunktates	Transaminasen GOT	GPT	LDH	Bilirubin dir.	ges.	ind.	(n.60') Bromthalein	(KAE) Alkalische Phosphatase	
fortschreitende	195	57	416	2,33	4,35	2,02	-	10,6	
Lebercirrhose	55	92	1134	-	0,71	-	1,12	-	
	25	83	-	-	-	-	2,84	13,9	
	132	100	-	-	1,5	-	2,8	11,6	
	385	387	339	3,55	4,04	0,50	2,64	8,3	
" biliäre	36	44	219	2,19	3,26	1,06	0,62	45,7	
angebl. 1958 dgn. LC.	72	49	423	-	0,5	-	0,71	-	
histol. nicht objektiv.	125	-	219	-	3,65	-	3,56	15,8	
-	-	1446	-	5,35	7,3	1,95	5,2	19,5	
-	1034	1805	922	5,82	9,18	2,36	5,28	9,0	
-	983	1436	-	-	4,33	-	3,32	10,2	
-	854	285	1285	4,04	7,26	3,22	-	19,o	
subacute Hepatitis++	1247	1238	688	6,0	11,4	5,45	-	19,5	
" Interstit. u. lob-	34	15	29	-	0,17	-	1,8	23,0	
Cholangiohepatitis	23	14	362	0,10	0,55	0,45	o.B.	13,3	
	-	-	-	-	0,76	-	0,52	9,3	
	Werte im Normbereich						Werte im Normbereich		
histol. Diagnose d. Op.- materials n. Cholecystekt.									
					0,45			5,0	
					-			8,3	
chron. frisch rezidiv.					-			8,2	
" Cholecystitis					-			12,6	Blasen-
" "					-			-	gallen
" "					-			-	
" rezidiv. "					6,1			44,0	

+ : Prof. Maßhoff, Path. Inst. d. F.U. Bln.

++ : 1 Monat nach B-Gallenuntersuchung u. klin. Diagnostik

Tab. 3: (Auszug aus Tab. 3)

Pat. mit erhöhter alkalischer Phosphatase als Ausdruck einer Cholastase

Nr.	Diagnose	Alkalische Phosphatase	Taurocholsäure	Taurodioxycholansäure	Glycocolsäure	Glycodioxycholansäure
20	Lebercirrhose	45,7 KAE	xxx	x	xxxx	xxx
38	Papillenstenose	44,0 "	xxxx	xx	xxx	x
28	Hepatitis	23,0 "	x	xx	xxxx	xx
23	Hepatitis	19,5 "	xxxx	x	xxx	xx
27	Hepatitis	19,5 "	xxx	x	xxxx	xx
26	Hepatitis	10,0 "	xxx	x	xxxx	xx
22	Lebercirrhose	15,8 "	xxx	x	xxx	xx
17	Lebercirrhose	13,9 "	xx	xx	xxxx	xxx
29	Hepatitis	13,3 "	xx	x	xxxx	xxx
34	Cholecystitis	12,6 "	x	xxx	xxx	xxxx
18	Lebercirrhose	11,6 "	x	xxx	xx	xxxx

Tab. 4: Auszug aus Tab. 4)

Pat. mit deutlich vermehrter Taurocholsäure und Glycocholsäure

Nr.	Diagnose	Alkalische Phosphatase	Taurocholsäure	Taurodioxycholansäure	Glycocolsäure	Glycodioxycholansäure
38	Papillenstenose	44,0 KAE	xxxx	xx	xxx	x
23	Hepatitis	19,5 "	xxxx	x	xxx	xx
24	Hepatitis	9,0 "	xxx	x	xxxx	xx
25	Hepatitis	10,2 "	xxx	x	xxxx	xx
26	Hepatitis	19,0 "	xxx	x	xxxx	xx
27	Hepatitis	19,5 "	xxx	x	xxxx	xx
21	Lebercirrhose	--	xxx	x	xxxx	xx
22	Lebercirrhose	15,8 "	xxx	x	xxx	xx
20	Lebercirrhose	45,7 "	xxx	x	xxxx	xxx
17	Lebercirrhose	13,9 "	xx	xx	xxxx	xxx
19	Lebercirrhose	8,3 "	xx	x	xxxx	xxx
29	Hepatitis	13,3 "	xx	x	xxxx	xxx
30	Zustand nach Hepatitis	9,3 "	xx	x	xxxx	xxx
31	Z.n.Hepatitis	--	xx	x	xxxx	xxx
16	Lebercirrhose	--	xx	x	xxx	xxxx
15	Lebercirrhose	10,6 "	xx	xxxx	x	xxx

Abb. 2: Dünnschichtchromatogramm eines Gesunden.
(aufgenommen bei Tageslicht nach Anfärbung mit Antimontrichlorid)

Abb. 3: Dünnschichtchromatogramm eines Patienten mit Hepatitis.
(aufgenommen bei Tageslicht nach Anfärbung mit Antimontrichlorid)

Der Unterschied in den in Abb. 2 und Abb. 3 gezeigten Chromatogrammen (Fleckgröße und Intensität) kommt bei Betrachtung im UV-Licht weitaus besser zur Darstellung. Leider war eine UV-Lichtphotographie aus technischen Gründen nicht möglich.

Ergebnisse:

ad I. Enthält die Galle gesunder Menschen freie Gallensäuren. Wenn ja, welche und in welchen Mengen?

Von 14 untersuchten B-Gallen Gesunder wurden in 5 Fällen freie Gallensäuren nachgewiesen: Es handelte sich dabei um Cholsäure, Chenodesoxycholsäure und Desoxycholsäure. Lithocholsäure konnte in keinem Fall nachgewiesen werden. In den meisten Fällen lag die Menge unter der der 4 bekannten konjugierten Gallensäuren (Taurocholsäure, der beiden Taurodioxycholansäuren, Glycocholsäure und der beiden Glycodioxycholansäuren). Jedoch lag in einem Fall freie Chenodesoxycholsäure in größeren Mengen als die Konjugate der Dioxycholansäuren vor, d.h. es ist möglich, daß in der B-Galle eine freie Gallensäure ihre Konjugate sogar mengenmäßig übertreffen kann.

ad II. Unterscheidet sich das Gallensäuremuster bei Leberkrankheiten, bei entzündlichen Veränderungen im Bereich der ableitenden Gallenwege sowie Hyper- oder Subacidität des Magensaftes von dem Gesunder?

Wie Tab. 2 zeigt, liegen die einzelnen Gallensäuren bei den meisten untersuchten B-Gallen Gesunder in folgenden Mengen vor:

Glycodioxycholansäuren	mit 4 bzw. 5 x
Taurodioxycholansäuren	mit 3 x
Glycocholsäure	mit 2 x
Taurocholsäure	mit 1 x (s. Abb. 2)

Auffällig ist dagegen, daß bei Lebercirrhose und Hepatitis die Cholsäure, besonders ihre Konjugate, auf Kosten der Dioxycholansäuren stark vermehrt ist (s. Abb. 3 und Tab. 4).

Von 17 untersuchten Gallen von Patienten mit Lebercirrhose und Hepatitis zeigen

15 eine Vermehrung der Taurocholsäure,
15 eine Vermehrung der Glycocholsäure,
15 eine Verminderung der Taurodioxycholansäuren und
15 eine Verminderung der Glycodioxycholansäuren.

Die Unterschiede sind so ausgeprägt, daß sie weit über die Täuschungsmöglichkeiten einer semiquantitativen Methode hinausgehen (z.B. x gegenüber xxx bzw. xxxx).

In 6 von 17 Gallenextrakten wurden freie Gallensäuren, nämlich Cholsäure, Chenodesoxycholsäure und Desoxycholsäure gefunden. Auch bei diesen Untersuchungen konnten in keinem Fall Lithocholsäure nachgewiesen werden.

B-Gallen von kranken mit Entzündungen der ableitenden Gallemwege wie auch mit Hyper- und Subacidität des Magensaftes zeigten keine auffälligen Unterschiede im Gallensäuremuster verglichen mit dem Gesunder. Die relativen Mengenverhältnisse sind außer in einem Fall von hochgradiger Cholostase (Fall 38) gleich denen gesunder Probanden.

Auch hier treten in ca. 30% freie Gallensäuren (Cholsäure, Chenodesoxycholsäure und Desoxycholsäure) auf.

Ein Patient (Fall 38) mit Stauungs- und Steingallenblase, hochgradiger Erweiterung des Choledochus bei Papillenstenose (Operationsdiagnose), zeigt im Gallensäurenchromatogramm eine besonders signifikante Verschiebung der relativen Mengenverhältnisse (s. Tab. 2). Hier ist Taurocholsäure mit 4 x um drei und Glycocholsäure mit 3 x um einen Intensitätsgrad vermehrt, entsprechend sind die

Taurodioxycholansäuren mit 2 x um einen und die Glycodioxycholansäuren mit 1 x um drei Intensitätsgrade erniedrigt.

ad III. Zeigen sich Unterschiede im Gallensäuremuster zwischen Blasengalle (Inhalt ektomierter Gallenblasen) und sogenannter B-Galle?

Wir aus Tab. 2 ersichtlich ist, zeigen sich keinerlei Unterschiede im Gallensäuremuster der untersuchten Blasen- und B-Gallen. Von 5 untersuchten Blasengallen treten in einem Fall freie Gallensäuren (Cholsäure, Chenodesoxycholsäure und Desoxycholsäure) in jeweils kleineren Mengen als ihre Konjugate auf.

Diskussion der Ergebnisse.

In 35% der untersuchten B-Gallen Kranker wie auch Gesunder treten freie Gallensäuren auf. Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch zu denen von Sjövall[30], Lindstedt und Norman[29] sowie Encrantz[2], die mit Hilfe der Papierchromatographie bei Gesunden weder in der Fistelgalle noch im Duodenalsaft freie Gallensäuren nachweisen konnten. Das Vorkommen freier Gallensäuren in der Galle wurde zwar nicht bestritten, jedoch lag ihre Menge außerhalb der Nachweisgrenze der angewandten Methoden. - In einer späteren Arbeit erwähnt Sjövall[6] das Auftreten freier Gallensäuren. Einzig Failey[4] beobachtete 1960 mit einer empfindlicheren säulenchromatographischen Methode das Vorkommen freier Gallensäuren in Fistelgalle wie auch im Duodenalsaft (freie Dioxycholansäuren 0,1 bis 8% der Gesamtmenge der gefundenen Gallensäuren).

Es ist bekannt, daß die Konjugation der Gallensäuren mit Glycin bzw. Taurin in der Leber erfolgt. Mechanismus und Lokalisation der Konjugation sind noch nicht bekannt, doch wird angenommen, daß die Leberzelle die entsprechenden Enzyme zur Verfügung stellt. Glycin fällt beim Eiweißabbau laufend im Organismus an und steht somit in der Leber zur Konjugation zur Verfügung. Taurin soll jedoch erst beim Auftreten von Gallensäuren in der Leber neu gebildet werden[31]. Nach Bremer[32,33] und Siperstein[34] verbinden sich die Gallensäuren mit einem Vorläufer des Taurins; danach erfolgt die Oxydation der Schwefelverbindung zu Taurin. Welche Fermente an dieser Konjugation beteiligt sind, ist noch nicht geklärt.
Ein Fehlen freier Gallensäuren als Ausdruck intakter fermentativer Leistungen der Leber wäre so durchaus verständlich. Wie oben beschrieben, treten jedoch in 35% der untersuch-

ten B-Gallen freie Gallensäuren auf. Somit kann das Auftreten freier Gallensäuren als primär pathologisches Zeichen, wie dies früher von S c h ö n h e i m e r[35] angegeben wurde, nicht bestätigt werden.
Nach den zur methodischen Absicherung durchgeführten Vorversuchen läßt sich bei exakter Versuchsanordnung und konstanten Versuchsbedingungen ausschließen, daß die gefundenen freien Gallensäuren als Artefakte entstanden sein könnten.

Die Hauptmenge der Gallensäuren liegt in gebundener Form vor und in 2/3 der Fälle lassen sich auch nur konjugierte Gallensäuren nachweisen.
Dieses Ergebnis könnte so erklärt werden:
Zum Zeitpunkt der Untersuchung entsprach das Angebot freier Gallensäuren dem der Aminosäuren Taurin bzw. Glycokoll. In dem Drittel der Fälle, in dem freie Gallensäuren gefunden wurden, könnte das Verhältnis Aminosäuren zu Gallensäuren zu Gunsten der Gallensäuren verschoben gewesen sein. Beweisend wären in diesem Fall Belastungsversuche mit Gallensäuren, ähnlich den Taurin- und Glycinbelastungsversuchen von S j ö v a l l[36], bei denen nach Gaben freier Gallensäuren auch ein Anstieg freier Gallensäuren in der Galle nachzuweisen wäre.

Bei schweren Leberzellschädigungen treten Änderungen des Gallensäuremusters auf. Der qualitativen bzw. semiquantitativen Untersuchung freier Gallensäuren kommt allerdings keine diagnostische Bedeutung zu.
Unsere Untersuchungen zeigten bei annähernd allen Patienten mit Leberzellschädigung ein Ansteigen der Trioxycholansäuren auf Kosten der Dioxycholansäuren. Die genannten Veränderungen sind in den Fällen besonders ausgeprägt, in denen eine Cholestase klinisch (erhöhte alkalische Phosphatase- und Bilirubinwerte) und pathologisch-anatomisch (makroskopisch erweiterte Gallengänge, ty-

pische histologische Veränderungen) im Vordergrund stehen. So könnte man annehmen, daß die Verweildauer der freien wie auch der konjugierten Gallensäuren bei Cholestase am Ort oxydierender Enzymaktivität verlängert ist, so daß eine entsprechende Verminderung der Dioxycholansäuren beobachtet wird.
Leider ist unser Wissen über die Fermentsysteme des Menschen die Cholansäuren oxydieren, unvollkommen, sodaß diese Deutung nicht experimentell geprüft werden kann.

Auch sind alimentäre Faktoren für das Zustandekommen des oben beschriebenen Effektes nicht sicher auszuschließen, da eine eiweißreiche Kost, die ja zur Standardbehandlung von Lebercirrhose und Hepatitis gehört, eine Vermehrung der Cholsäurefraktion der Leber zur Folge hat (H a w k i n[37]).
Eine Verschiebung des Taurin/Glycin-Verhältnisses zu Gunsten der Taurinkonjugate, wie dies von E k d a h l[38] bei Leberkrankheiten beschrieben wurde, können wir nicht bestätigen.

Das Gallensäuremuster bei Krankheiten im Bereich der ableitenden Gallenwege zeigt, falls keine Gallenstauung vorhanden ist, keine Unterschiede gegenüber dem Gesunder. Gleiches gilt auch für Gallen von Patienten mit Hyper- und Subacidität des Magensaftes. Dieses ist nach obigen Ausführungen verständlich, wenn Cholestase und ausgedehnter Leberzellschaden fehlen. Sind jedoch Stauungszeichen vorhanden, wie im Fall 38 zu sehen, so wird auch hier eine deutliche Vermehrung der Trioxycholansäuren bei Verminderung der Dioxycholansäuren beobachtet.

Interessant ist in diesem Zusammenhang die Frage, ob neben den bekannten Funktionen des Gallenblasenepithels (Schleimproduktion, Wasserresorption u.a.) auch ein enzymatischer Angriff auf die Galle und damit auch auf die Gallensäuren stattfindet. Solange jedoch keine Lebergalle zur Untersuchung zur Verfügung steht, kann diese Frage nicht beantwortet werden.

Einen Anhalt dafür, daß die Gallensäuren auf dem Wege von der Gallenblase in das Duodenum keine wesentlichen Veränderungen erfahren, konnte durch den Vergleich des Gallensäuremusters von Blasengalle mit dem des Duodenalsaftes gewonnen werden. Ein Vergleich von Blasengalle mit vor Cholecystektomie gewonnener B-Galle ein und desselben Patienten war mit Rücksicht auf die klinische Situation der Kranken nicht möglich. Nach obigen Erfahrungen wäre jedoch kein unterschiedliches Ergebnis zu erwarten.

Bemerkenswert sind inkonstant auftretende, nicht zu identifizierende Flecke in den Chromatogrammen.
Sie liegen zwischen den bekannten Gallensäuren, jedoch ober- oder unterhalb des konvexen, unter 45° verlaufenden Bogens, auf dem die konjugierten sowie freien Gallensäuren liegen. Einige von ihnen zeigen eine gewisse Konstanz in Farbtönung und Laufstrecke. Möglicherweise handelt es sich um andere Steroide oder Abbauprodukte von Arzneimitteln.

Zusammenfassung.

44 B-Gallen gesunder Probanden sowie von Patienten mit Leberkrankheiten, entzündlichen Veränderungen im Bereich der ableitenden Gallenwege, Hyper- oder Subacidität des Magensaftes wurden dünnschichtchromatographisch im zweidimensionalen Verfahren nach Wagener und Frosch aufgetrennt. In 35% der untersuchten Gallen (Gesunder sowie Kranker) ließen sich folgende freie Gallensäuren nachweisen: Cholsäure, Chenodesoxycholsäure und Desoxycholsäure. Lithocholsäure konnte in keinem Fall gefunden werden. Das Gallensäurespektrum Gesunder zeigte jeweils proportionierte Mengenverhältnisse der konjugierten Säuren. Bei Gallen von Leberkranken (Hepatitis, Lebercirrhose) ließen sich Vermehrungen der Trioxycholansäuren auf Kosten der Dioxycholansäuren nachweisen.

Chromatogramme von Patienten mit entzündlichen Veränderungen der ableitenden Gallenwege, Hyper- und Subacidität des Magensaftes gleichen denen gesunder Probanden.
Ein Vergleich von Blasengalle mit B-Galle ergab keine Unterschiede in dem chromatographischen Gallensäuremuster der verschiedenen Ausgangsmaterialien. Außer den bekannten, traten zusätzliche, nicht zu identifizierende Flecke in den Chromatogrammen auf. Die Ergebnisse werden diskutiert.

Literaturverzeichnis.

1) Hoppe-Seyler/Thierfelder: Handbuch der Physiologischen und Pathologisch-Chemischen Analyse. S. 1428-1435. Springer Verlag 1955

2) Encrantz,J.-C. u. Sjövall, J.: Bile Acids in Newborn and Adult Humans. Acta Chem. Scand. 11 (1957) 1093.

3) Lindstedt,S.: On the Turnover of Cholic Acid in Man. Arkiv Kemi 11 (1957) 145.

4) Failey, R.B., Brown,E.u.Hodes,M.E.: The Bile Composition of Human Bile from Three Sources. Arch. of Pathol. 70 (1960) 358

5) Hayakawa,S. u. Kurokawa, K.: Microbiological Dehydration of Cholic Acid. Nature 199 (1963) 490.

6) Sjövall,J.: Bile Acids in Man Under Normal and Pathological Conditions. Bile Acids and Steroids 73. Clin. Chim. Acta 5 (1960)33-41.

7) Wootton,I.D.P. u. Wiggins, H.S.: Studies in the Bile Acids. 2. The Non-Ketonic Acids of Human Bils. Biochem. J. 55 (1953) 292.

8) Giovannetti, S., Maggiore,Q., Vivaldi,G. : Bile Acids in the Bile of Cirrhotics (ital.) Minerva med. 51 (1960) 1250.

9) Isaksson,B.: On the Mane Cholanic Acids of Human Bile from Normal Gallbladder and from Gallbladder Associated with Cholesterol Stones. Acta Soc.Med.Upsaliensis 59 (1953-54) 307.

10) Ahrens,E.H. and Craig,L.C.: The Extraction and Separation of Bile Acids. J.od Bio.Chem. 195 (1952) 763

11) Howard,G.A. and Martin,A.J.P.: The Separation of C_{12}-C_{18}-Fatty Acids by Reversed-Phase Partition Chromatography. Biochem.J. 46 (1951) 532.

12) Norman,A.: Separation of Conjugated Bile Acids by Partition Chromatography. Bile Acids and Steroids 6. Acta Chem. Scand. 7 (1953) 1413.

13) Sjövall,J.: On the Separation of Bile Acids by Partition Chromatography. Acta Physiol. Scand. 29 (1953) 232.

14) Mosbach,E.H. u. Zomzely,C. u. Kendall,F.E.: Separation of Bile Acids by Column-Partition Chromatography. Arch.Biochem. 48 (1954) 95.

15) Hauton,J.C.: Gradient de Polarité en Chromatographie de Partage en Phase Inversée. Application à la Séparation des Acides Mono-, Di- et Tri-Hydroxycholaniques. J. of Chromatography 9 (1962) 439.

16) Griessmann,H. u. Falck,W.: Über den Gehalt und die Bestimmung der Gallensäuren in Gallenflüssigkeiten des Menschen. Klin.Wschr. 26 (1948) 52.

17) Kritchevsky,D. u. Kirk,M.R.: Paper Chromatography of Bile Acids. J. of the Amer.Chem.Soc. 74 (1952) 4713.

18) Beyreder,J. u. Rettenbacher, Däubner,H.: Die Trennung verschiedener Gallensäuren mittels Papierchromatographie. Mh. Chem 84 (1953) 99.

19) Sjövall,J.: The Determination of Bile Acids in Bile and Duodenal Contents by Quantitative Paper Chromatography. Clin.Chem.Acta 4 (1959) 652.

20) Hamilton,J.G. u. Dieckert,J.W.: The Separation of Some Acids by Glasspaper Chromatography. Arch. of Biochem. a.Biophys. 82 (1959) 203.

21) Gänshirt,H., Koss,F.W., Morianz,K.: Untersuchung zur quantitativen Auswertung der Dünnschichtchromatographie. Arzneimittelforschung 10 (1960) 943.

22) Stahl,E.: Dünnschichtchromatographie. 1962 Springer Verlag.

23) Wagener,H. u. Frosch,B.: Dünnschichtchromatographische Trennung von Gallensäuren. Klin.Wschr. 41 (1963) 1094.

24) Von den Heuvel,W.J.A., Sweeley,C.C., Hornung,E.C.: Microanalytical Separations by Gas Chromatography in the Sex Hormone and Bile Acids Series. Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1 (1960) 33.

25) Blomstrand, R.: Gas Liquid Chromatography of Human Bile Acids. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 107 (1961) 126.

26) Sjövall,J., Meloni, C.R., Turner,D.A.: A Study of Substituted Cholanic Acids by Gas-Liquid Chromatography. J.Lipid Research 4 (1961) 317.

27) Norman,A.: Preparation of Conjugated Bile Acids Using Mixed Carbolic Acid Anhydrides. Bile Acids and Steroids 34. Arkiv för Kemi 32 (1955) 331.

28) Carey,J.B. a. Bloch,H.S.: The Rapid Identification of Bile Acids with an Antimony Trichloride Color Reagent. J. of Lab. and Clin.Med. 44 (1954) 486.

29) Lindstedt,S. a. Norman,A.: On the Excretion of Bile Acid Derivates in Feces of Rats Fed Cholanic Acid-24-^{14}C and Chenodesoxycholanic Acid-24-^{14}C. Bile Acids and Steroids 19. Acta Physiol. Scand. 34 (1955) 317.

30) Sjövall,J.: Quantitative Determination of Bile Acids on Paper Chromatograms, Bile Acids and Steroids 33. Ark. Kemi. 8 (1955) 317.

31) Popper,H. und Schaffner,T.: Die Leber. S. 68-70, Aufl. 1961, Verl. Thieme Stuttgart.

32) Bremer,J.: The Conjugation of Glycine with Cholic Acid and Benzioc Acid in Rat Liver Homogenates. Bile Acids and Steroids 21. Acta Chem. Scand. 9 (1955) 268.

33) Bremer,J.: Cholyl-CoA as an Intermediate in Taurocholic Acid Formation by Rat Liver Microsomes. Acta Chem. Scand. 9 (1955) 1036.

34) Siperstein,M.D. and Murray,A.W.: Encymatic Synthesis of Cholyl CoA and Taurocholic Acid. Science 123 (1956) 377.

35) Schönheimer,R., Andrews,E., Hrdina,L.: Über das Auftreten ungekoppelter Gallensäuren in menschlicher Galle. Hoppe Seyler's Ztschr. f. Phys.Chem. 208 (1932) 182.

36) Sjövall,J.: Dietary Glycine and Taurine on Bile Acid Conjugation in Man Bile Acids and Steroids 75. Proc. of the Soc. for Exp.Biol. a Med. 100 (1959) 676.

37) Hawkin,W.B., Hanson,P.C., Coon,R.W. u. Terry,R.: Bile Salt Metabolism as Influenced by Pure Amino Acids and Casein Digests. J. Exper. Med. 90 (1939) 461.

38) Ekdahl,P.H.: On the Conjugation and Formation of Bile Acids in the Human Liver. 6. On the Conj. of Cholic Acid-24 ^{14}C in Human Liver Homogenates in Various Deseases with Special Reference of Patients with Jaundices Bile Acids and Steroids 66. Acta Chir. Scand.115 (1958) 208.

Meinem verehrten Lehrer Herrn Professor Dr.G.Schettler möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas sowie die jederzeit gewährte Hilfe meine Dankbarkeit ausdrücken.

Herrn Dr. B. Frosch danke ich für seine Unterstützung bei den Experimenten sowie für die wertvolle Beratung bei der Durchsicht der Arbeit.

Herrn Dr. H. Wagener gilt mein besonderer Dank für beratende Gespräche.

L e b e n s l a u f

Am 30. Dezember 1938 wurde ich, Alexandra S c h m i d t, als Tochter des Arztes Dr.med.Herbert S c h a c k w i t z und seiner Ehefrau Irene Schackwitz geb. Gräfin zu Dohna-Schlodien, in Berlin-Tiergarten geboren.

Nach Absolvierung der Grund- und Oberschule bestand ich im Frühjahr 1957 die Reifeprüfung an der Heinrich-von-Kleist-Schule in Berlin-Tiergarten.

Nach 11 Semestern Medizinstudium in Berlin, Bonn und Kiel legte ich am 23. September 1963 in Berlin die ärztliche Prüfung ab.
Nach 2-jähriger Medizinalassistententätigkeit erhielt ich am 18. März 1966 die Approbation als Ärztin.

Am 18. September 1964 heiratete ich den damaligen Medizinalassistenten, heutigen Arzt, Dr. med. Helmut Schmidt. Am 20.6.1965 wurde unsere erste Tochter geboren.